

Glutathion v parenterální výživě



F. CONTALDO, M. M. MOLITERNO

Department of Clinical Medicine and Surgery,
University Federico II, Neapol, Itálie

Glutathion (GSH) neboli γ -L-glutamyl-cysteinyl-glycin je hlavní intracelulární thiolovou sloučeninou. Syntéza GSH zahrnuje dva enzymatické kroky vyžadující ATP: tvorbu γ -glutamylcysteinu z glutamátu a cysteinu; a tvorbu GSH z γ -glutamylcysteinu a glycinu. GSH se v organismu nachází v koncentracích 1–10 mM, přičemž nejvyšších koncentrací dosahuje v játrech, kde plní kromě jiného roli silného antioxidantu.¹ GSH má však ve skutečnosti i jiné funkce, jako je např. redoxní signalizace a detoxikace xenobiotik nebo zapojení do buněčné proliferace, apoptózy, ukládání cysteinu, imunitních funkcí a fibrogenese¹. Uvedené skutečnosti zakládají jeho široké terapeutické využití.

GSH se vyskytuje ve formě redukovaného thiolu (GSH) nebo v disulfidové oxidované formě (GSSG), přičemž hlavní podíl představuje GSH.¹ V organismu je GSH produkován především v játrech a následně je uvolňován do plazmy a žluče (což naznačuje centrální terapeutickou úlohu suplementace GSH u chronických a akutních onemocnění jater). GSH je nejdůležitějším antioxidantem.

GSH je přítomný v buněčném jádru, kde sehraává důležitou roli v buněčném cyklu a proliferaci. V buněčném jádru GSH udržuje stav kritických sulfhydrylových skupin, které jsou potřebné pro opravy DNA, její expresi a fungování, ale slouží také jako donor vodíku při redukci ribonukleotidů na deoxyribonukleotidy, čímž se podílí na syntéze DNA.² Transportér GSH též nacházíme v endoplazmatickém retikulu, kde je GSH přítomen hlavně ve své oxidované formě (GSSG). V rámci buněčných organel je GSH nejvíce zastoupen v mitochondriích, ve kterých je uloženo přibližně 10–15% celkové

buněčné zásoby. GSH se zde nalézá převážně v redukované formě.¹ Mitochondrie jsou primárním místem intracelulární spotřeby kyslíku a hlavním zdrojem ROS (reaktivních forem kyslíku).

ROS jsou malé difundibilní molekuly, které se od většiny biologických molekul liší nespárovaným elektronem (jde o volné radikály). Volné radikály jsou obvykle velmi reaktivní a účastní se řetězových reakcí, v nichž může vznik jednoho počátečního radikálu poškozovat postupnou propagací celou řadu jiných molekul.

Mitochondrie jsou tak nejvíce ohroženy škodlivými účinky kyslíkových radikálů, a GSH zde proto sehraává nejvýznamnější roli. Kromě fyziologicky produkováných ROS se může tvorba ROS zvyšovat působením různých toxických nebo patologických činitelů a vyvolávat tak sekundární oxidativní poškození buněk, a to zejména při narušeném transferu GSH uvnitř mitochondrií.

MITOCHONDRIÁLNÍ SMRT BUŇKY SOUVISEJÍCÍ S GSH A ZÁNĚT

Koncentrace mitochondriálního glutathionu (mGSH) hraje centrální roli v buněčné apoptóze a nekróze. Apoptóza neboli přirozená smrt buňky je charakteristická GSH zprostředkovanými slabými zánětlivými procesy, zatímco nekróza vyvolává intenzivní zánětlivou odezvu, která má za cíl opravit destruované tkáně. Patologická deplece mGSH může upřednostňovat nekrotické procesy a přispívat tak k rozvoji patologických stavů.

Antioxidační funkce GSH se uplatňuje zejména prostřednictvím GSH peroxidázou (Gpx) katalyzovaných reakcí, které redukují peroxidy vodíku a lipidové peroxidy, přičemž dochází k oxidaci GSH na GSSG. GSSG je následně redukován zpět na GSH pomocí GGSG reduktázy, a to prostřednictvím NADPH, čímž se utváří redoxní cyklus.¹

GSH je obzvláště důležitý v mitochondriích, kde je aktivně využíván, avšak není zde produkován. Uplatňuje se tu zejména jeho ochranná role vůči fyziologickému a patologickému oxidativnímu stresu. Když intenzita oxidačního stresu překoná kapacitu buněk redukovat GSSG na GSH, GSSG může být aktivně z buněk vylučován nebo může reagovat se sulfhydrylovými skupinami proteinů, což vede k tvorbě smíšených disulfidů a následně tak při intenzivním oxidativním stresu k vyčerpání celulárních zásob GSH.¹

Ke snížení hladiny GSH dochází u řady chronických a infekčních onemocnění, kde hraje klíčovou roli oxidativní stres, jako jsou například chronická onemocnění jater vyvolaná alkoholem. Vyskytuje se také u méně častých klinických případů, jako je například hemolytická anémie, aminoacidurie, schizofrenie apod., kde k nedostatku GSH dochází sekundárně v důsledku snížené produkce zapříčiněné polymorfismem se sníženou expresí enzymů syntetizujících GSH. Kromě toho je nedostatek GSH často spojován s předčasným stárnutím, diabetem, cystickou fibrózou, endotoxémií, cholestatickými onemocněními,

CHOPN (chronickou obstrukční plicní nemocí) a onemocněními jater vyvolanými alkoholem nebo jinými příčinami (steatóza a steatofibróza, virová hepatitida).

Souhrnně tak lze říct, že mGSH hraje klíčovou roli při potlačování působení vytvářených ROS a ovlivňuje tak způsob odumírání buněk a rozvoj onemocnění. Nedostatek mGSH přispívá kromě jiného ke zvýšené citlivosti hepatocytů nebo neuronů na patologické podněty, které vytvářejí oxidativní stres, včetně produkce prozánětlivých cytokinů.² Protože GSH není v mitochondriích vytvářen, integrita mitochondriální membrány se zdá být pro účinné terapeutické využití GSH rozhodující. Na druhé straně, oxidanty hrají klíčovou roli u řady infekčních onemocnění vedoucích k zánětu a vytvářejí příznivé podmínky pro průnik mikrobiálních infekcí. Suplementace GSH nebo jeho prekurzorů se proto zdá být očividně vhodnou terapeutickou strategií.

GLUTATHION V ONKOLOGII

Indikace

Profylaxe neurotoxicity chemoterapeutické léčby cisplatinou nebo souvisejícími produkty.

Ochranný účinek GSH vůči toxicitě antineoplastických chemoterapeutik

Možné ochranné působení GSH proti toxickým účinkům protinádorových léčiv dokumentuje několik pozorování.³⁻⁸ Řada chemoterapeutik snižuje tkáňové a buněčné hladiny glutathionu, a zvyšuje tak oxidativní stres vyvolaný nádorem. Rakovinové buňky rezistentní vůči antineoplastickým léčivům obsahují vysoké hladiny tohoto peptidu.⁹ Tyto údaje naznačují, že toxicita cisplatinu a jiných protinádorových léčiv je přinejmenším částečně zprostředkována interakcí s endogenním glutathionovým systémem.

Cisplatinu je alkylující léčivo a je hodnocena jako jedno z neúčinnějších protinádorových léčiv (v mono- nebo polyterapii) pro léčbu více druhů nádorů.¹⁰ Cisplatinu je vysoce toxická pro ledviny, snižuje glomerulární filtraci a vyvolává poškození tubulů.¹¹ Z tohoto důvodu se cisplatinu používá v protokolech, které vyžadují intenzivní hydrataci (až 6 l tekutin) a podávání hypertonických roztoků a diuretik. Tyto postupy umožňují zvýšit dávku nad 100 mg/m² povrchu těla (p. t.) při akceptovatelné nefrotoxicitě, ale nesou s sebou další nevýhody a významná rizika.¹² Jiné typy dávkově závislých (a dávkou omezujících) toxických účinků cisplatinu reprezentuje myelotoxicita, ototoxicita, a především neurotoxicita, která se projevuje jako periferní neuropatie. Ta je nejčastějším typem kumulativní toxicity cisplatinu a objevuje se zejména po podání celkových dávek vyšších než 300 mg/m² p. t.¹³

Protože toxicita cisplatinu může být přisouzena vazbě jejích reaktivních intermediátů na thiolové skupiny membránových proteinů renálních tubulů,¹⁴ GSH může s těmito proteiny soutěžit o vazbu s cisplatinou, a ovlivňovat tak její toxicitu.

Endogenní GSH nepřekonává buněčné membrány difúzí, ale proniká pouze do tkáňových buněk s vysokou expresí enzymu γ -glutamyl transpeptidáza, který hydrolyzuje GSH na původní aminokyseliny. Selektivita cytoprotektivního účinku exogenního GSH u normálních tkání je tak přisuzována jeho omezené penetraci do nádorových buněk, které mají jen málo γ -glutamyl transpeptidázy.¹⁵

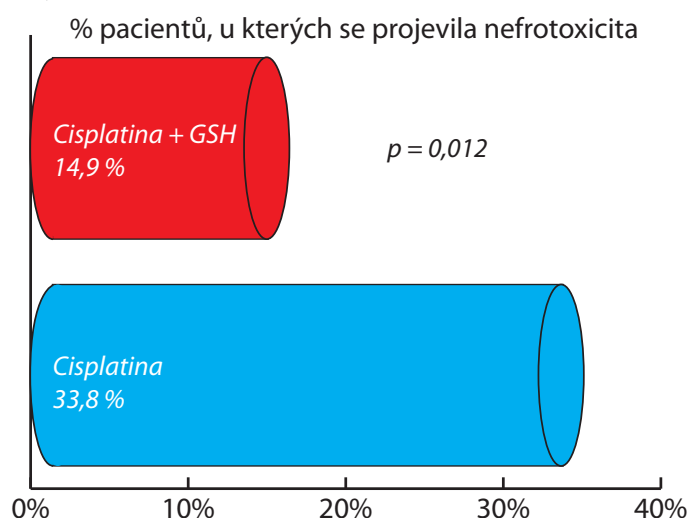
Klinické studie

Cisplatinu + GSH v klinické praxi

Nejdůležitější klinickou studii realizoval Smyth a kol.: Šlo o randomizovanou, dvojitě zaslepenou, placebem kontrolovanou studii s paralelními skupinami, zahrnujícími celkově 151 pacientek s ovarialním karcinomem stadia I až IV. Pacientky byly randomizovány k léčbě cisplatinou (100 mg/m² p. t.) + standardní hydrataci (3 litry), s aplikací GSH (3 g/m² p. t.) nebo bez aplikace, podávané vždy každé 3 týdny po 6 cyklech.¹⁶

Výsledky ukazují, že pacientky, jimž byl podáván GSH, snášely léčbu cisplatinou významně lépe, což umožnilo realizovat nejvyšší možný počet cyklů a zmenšit potřebu redukce dávkování. Celkem 6 cyklů chemoterapie (bez ohledu na dávkování cisplatinu) dokončilo 58% pacientek ze skupiny dostávající GSH a 39% pacientek z kontrolní skupiny (p = 0,04). 6 cyklů chemoterapie při nejvyšším dávkování cisplatinu (100 mg/m² p. t.) dokončilo 23% pacientek ze skupiny dostávající GSH a 15% pacientek z kontrolní skupiny. Kompletní odezva (KO) nebo parciální odezva (PO) byla pozorována u 74% pacientek léčených cisplatinou spolu s GSH a u 62% pacientek léčených pouze cisplatinou.

Nefrotoxicita byla důvodem přerušení léčby u 11 pacientek léčených cisplatinou spolu s GSH a u 26 pacientek v kontrolní skupině léčených pouze cisplatinou (p = 0,012) (obr. 1).



V dvojitě zaslepené, placebem kontrolované a randomizované studii u pacientů s pokročilým karcinomem žaludku bylo 25 z 50 pacientů léčeno cisplatinou a dalších 25 cisplatinou s GSH v dávce 1,5 g/m² p. t.¹⁷ Po 9 týdnech chemoterapie žádný s pacientů léčených GSH nevykazoval klinické známky neuropatie; oproti tomu 16 pacientů v kontrolní skupině (p = 0,0001) ano. Po 15 týdnech léčby byly příznaky neuropatie pozorovány pouze u 4 ze 24 pacientů léčených cisplatinou a GSH; oproti 16 z 18 pacientů kontrolní skupiny léčených samotnou cisplatinou (p = 0,0001).

Rychlost sensorického vedení v středovém (*n. medianus*), loketním (*n. ulnaris*) a senzitivním nervu (*n. suralis*) byla v placebové skupině významně snížena, nic takového se však nepozorovalo ve skupině, již byl podáván také GSH. Kromě toho pacienti léčení cisplatinou s GSH měli nižší výskyt závažných anémií a trombocytopenií, vyžadovali tak nižší počet krevních transfúzí (32 vs. 62) a bylo možné použít kratší intervaly mezi cykly chemoterapie. Klinická účinnost cisplatinu nebyla ovlivněna.

Oxaliplatina + GSH v klinické praxi

Oxaliplatina má relativně pevné postavení v léčbě kolorektálního karcinomu. V kombinaci s fluorouracilem (5FU) reprezentuje účinnou léčbu první linie a její přidání k režimům 5FU též představuje aktivní záchranou léčbu.¹⁸⁻²¹ Nejčastějším toxickým účinkem souvisejícím s léčbou oxaliplatinou je neurotoxicita.

Riziko rozvoje vážných poruch neurologických funkcí souvisí s kumulativní dávkou a obvykle začíná představovat problém při přibližování kumulativní dávky k 800 mg/m² p. t. Tyto účinky jsou sice reverzibilní, avšak mohou přetrvávat až několik měsíců nebo si vyžadat přerušení léčby.

V klinické studii²² byla 52 pacientům s histologicky ověřeným pokročilým kolorektálním karcinomem podávána první den oxaliplatina v dávce 100 mg/m² p. t. ve formě 2hodinové infuze s 250 ml 5% dextransou současně s 6-S-steroisomerem leukovorinu v dávce 250 mg/m² p. t. (opět jako 2hodinová infuze) a následně 24hodinová infuze 5FU 1500 mg/m² p. t./den po 2 následující dny. Tato léčba se opakovala každé 2 týdny. GSH byl podáván v dávce 1500 mg/m² p. t. ve 100 ml normálního fyziologického roztoku po dobu 15 minut okamžitě před každým podáním oxaliplatinou (n=26), zatímco pacientům randomizovaným do placebové skupiny byl podáván ve stejném množství pouze fyziologický roztok.

Neurofyziologické hodnocení neprokázalo po 4 cyklech chemoterapie ani v jedné skupině žádné změny průměrné latence a potenciálové senzorické amplitudy senzitivního nervu (*n. suralis*). Po 8 cyklech chemoterapie se v ramenu pacientů užívajících GSH rovněž nepozorovaly žádné změny průměrné latence a potenciálové senzorické amplitudy senzitivního nervu, avšak ve skupině s placebem místo GSH byly tyto parametry významně zhoršené.

Závěr

Glutathion: terapeutická role:

- Větší počet léčebných cyklů
- Nemění účinnost chemoterapie
- Adekvátní dávky chemoterapie
- Žádná další toxicita
- Lepší kontrola neoplazmatického onemocnění
- Lepší kvalita života

Tyto poznatky souhrnně podtrhují význam terapeutického použití GSH v onkologii.

Dávkování

Denní dávka GSH obvykle doporučovaná pro pacienty podstupující chemoterapeutickou léčbu cisplatinou a souvisejícími produkty je 1,5 g/m² p. t. (odpovídá 2500 mg), podávaná intravenózní infuzí 15–30 min. před infuzním podáním chemoterapie. Dávkování je však závislé na věku, tělesné hmotnosti a klinickém stavu pacienta a mělo by též odpovídat dávkování a schématu podávání chemoterapeutických léčiv.

GSH tak může být považován za patogenetickou léčbu u některých zánětlivých onemocnění, v současnosti tak častých v rozvinutých i rozvojových zemích a charakterizovaných kromě jiného zvýšenou hladinou prooxidačních molekul, a taktéž za významnou adjuvantní léčbu při aplikaci některých účinných antineoplastických léčiv. V obou případech léčba pomocí GSH prakticky nemá žádné vedlejší účinky, což významně podtrhuje význam její indikace u křehkých starších pacientů s chronickými nebo neoplazmatickým onemocněním.

Redakčně kráceno

Literatura

1. Lu S.C. – Glutathione synthesis – *Biochimica et Biophysica Acta* 1830 (2013), 3143–3153
2. Mari M. et al – Mitochondrial glutathione: features, regulation and role in disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830 (2013), 3317–3328
3. Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: Impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer* 2000; 37 (1): 1-18
4. Faber M, Coudray C, Hida H, et al. Lipid peroxidation products and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy including adriamycin. A preliminary study. *Biol Trace Elem Res* 1995; 47: 117-123
5. Weijl NI, Hopman GD, Wipkink-Bakker A, et al. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. *Ann Oncol* 1998; 9: 1331-1337
6. Durken M, Agbenu J, Finckh B, et al. Deteriorating free radical-trapping capacity and antioxidant status in plasma during bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 757-762
7. Erhola M, Kellokumpu-Lehtinen P, Metsa-Ketela T, et al. Effects of anthracyclin-based chemotherapy on total plasma antioxidant capacity in small cell lung cancer patients. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 383-390
8. Subramaniam S, Shyama S, Jagadeesan M, et al. Oxidant and antioxidant levels in the erythrocytes of breast cancer patients treated with CMF. *Med Sci Res* 1993; 21: 79-80
9. Mitchell JB, Cook JA, De Graff W, et al. Keynote address: glutathione modulation in cancer treatment: will it work? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 1289-1295
10. Muggia FM. Introduction: cisplatin update. *Semin Oncol* 1991; 18 (suppl 3): 1-4
11. Rosenberg B. Fundamental studies with cisplatin. *Cancer* 1985; 55: 2303-2316
12. Ozols RF, Corden BJ, Jacobs J, et al. High dose cisplatin in hypertonic saline. *Ann Intern Med* 1984; 100: 19
13. Mollman JE. Cisplatin neurotoxicity. *N Engl J Med* 1990; 322: 126-127
14. Corden BJ. Reaction of platinum (II) antitumor agents with sulphhydryl compounds and the implications for nephrotoxicity. *Inorg Chim Acta* 1987; 137: 125-130
15. Tedeschi M, Bohm S, Di Re F, et al. Glutathione and detoxification. *Cancer Treat Rev* 1990; 17: 203-208
16. Smyth JF, Bowman A, Perren T, et al. Glutathione reduces the toxicity and improves quality of life of women diagnosed with ovarian cancer treated with cisplatin: results of a double-blind, randomized trial. *Ann Oncol* 1997; 8: 569-573
17. Cascinu S, Cordella L, Del Ferro E, et al. Neuroprotective effect of reduced glutathione on cisplatin-based chemotherapy in advanced gastric cancer: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *J Clin Oncol* 1995; 13 (1): 26-32
18. De Gramont A, Figer A. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2938-2947
19. Giacchetti S, Perpoint B, Zidani R. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 136-142
20. Brienza S, Bensamine MA. Oxaliplatin added to 5-fluorouracil-based therapy in the treatment of 5FU-pretreated patients with advanced colorectal carcinoma (ACRS): Results from the European compassionate-use program. *Ann Oncol* 1999; 10: 1311-1316
21. Maindrault-Goebel F, de Gramont A. Evaluation of oxaliplatin dose intensity in bimonthly leucovorin and 48-hour 5-fluorouracil continuous infusion regimens (FOLFOX) in pretreated metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2000; 11: 1477-1483
22. Cascinu S, Catalano V, Cordella L, et al. Neuroprotective effect of reduced glutathione on oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3478-3483